

**Der Einfluß von Nikotin auf den
isolierten Sphinkter Iridis im Vergleich
zu entsprechenden Wirkungen von
Acetylcholin, Adrenalin,
Hexamethonium und Dihydroergotamin**

Otfrid Butenandt

Druck: Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 21777

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. A. W. FORST

DER EINFLUSS VON NIKOTIN
AUF DEN ISOLIERTEN SPHINKTER IRIDIS IM VERGLEICH ZU
ENTSPRECHENDEN WIRKUNGEN VON ACETYLCHOLIN, ADRENALIN,
HEXAMETHONIUM UND DIHYDROERGOTAMIN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Otfrid Butenandt
aus Göttingen



München 1959

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. A. W. FORST

Dekan: Professor Dr. K. KOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 17.3.1959

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	5
METHODIK	8
ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN	
1) Acetylcholin	10
2) Adrenalin	11
3) Nikotin	13
4) Wirkung von elektrischen Reizen oder Acetyl- cholin an Sphinkteren, die unter Nikotinein- fluss stehen	14
5) Hexamethonium	15
6) Wirkung von Hexamethonium und Nikotin bzw. Adrenalin	16
7) Dihydroergotamin (DHE)	18
8) Wirkung von Adrenalin nach DHE	20
9) Wirkung von Nikotin nach DHE	21
BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	23
ZUSAMMENFASSUNG	32
ABBILDUNGEN	33
LITERATURVERZEICHNIS	42

E I N L E I T U N G

Schon lange ist bekannt, dass Nikotin die Ganglienzelle blockiert (7, 8): ein präganglionär gesetzter Reiz kann nicht mehr in den Ganglien umgeschaltet werden. Dabei scheint Nikotin zunächst zu depolarisieren, in höheren Konzentrationen durch vollständige Depolarisation zu blockieren (36). Dadurch gelingt es, mit kleinen Dosen Nikotin eine Ermüdung der Ganglien teilweise aufzuheben (48). Auch an den Nervenzellen des Zentralnervensystems kann eine erregende Wirkung nachgewiesen werden (33).

Nikotin ruft aber auch an Muskeln verschiedener Organe einen Effekt hervor. Dieser Effekt kann einerseits durch direkten Einfluss des Nikotins auf das Organ, andererseits durch nervöse Übertragung von Ganglien, die unter Nikotineinwirkung stehen, hervorgerufen sein.

AMSLER (2) stellte schon 1920 die Behauptung auf, dass Nikotin auf das Herz über Ganglienzell-Lähmung wirke. Ebenso wies GIOTTI (19) am isolierten Meerschweinchen-Vorhof eine Hemmung oder Anregung durch Nikotin bei verschiedenen Versuchsbedingungen nach. Durch Hexamethonium ist der Nikotineinfluss zu unterdrücken. Das spricht für eine Ganglienreizung, da nach Ganglienblockade mit Hexamethonium Nikotin nicht mehr einwirken kann. Am isolierten Warmblüterherz tritt zunächst eine Bradykardie durch Erregung cholinergischer Herzganglien ein, wenn Nikotin hinzugefügt wird; darauf folgt eine Tachykardie durch Erregung adrenergischer Nerven Elemente (51). Die initiale Bradykardie bei der Katze, die durch Nikotintartrat hervorgerufen wird, beruht hauptsächlich auf zentraler Erregung des Vagus, weniger auf direktem Einfluss auf die peripheren Ganglien des Herzens. Bei Vagusblock muss die Dosis Nikotin das 10-fache betragen, um den gleichen Effekt zu erzielen. Hierbei werden die Herzganglien gelähmt (15).

Um den Einfluss auf Ganglienzellen auszuschalten, wählten FORST und REITER (16) das Aplysiaherz, da dieses keine ganglionären Elemente besitzt. Unter Nikotin wird die Hubhöhe vermindert, eventuell tritt dia-

stolischer Herzstillstand ein. Somit zeigt es den gleichen Erfolg wie Acetylcholin, wenn auch eine höhere Konzentration des Nikotins erforderlich ist. Es wird angenommen, dass es am gleichen Receptor wie Acetylcholin angreift.

Am quergestreiften Muskel führt Nikotin zur Kontraktion oder Kontraktur (17; 18; 21; 34). Die Kontraktur wird ausgelöst durch Depolarisation der Muskeln (13). Hierzu wurde eine Verdünnung von 1 : 5000 benutzt, das entspricht etwa einer Konzentration von $4 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter.

An der glatten Muskulatur des Darmes wurden ebenfalls Untersuchungen mit Nikotin von verschiedenen Autoren vorgenommen. Am isolierten Darm von Kaninchen und Meerschweinchen bewirken Acetylcholin und Nikotin Kontraktionen (12); auch hier scheint Nikotin ein parasympathisch wirkender Reizstoff zu sein. Über den Angriffspunkt am Darm liegen jedoch verschiedene Ansichten vor: BUSSE und Mitarbeiter (5) zeigen, dass Nikotin in lähmender Grenzkonzentration nicht antagonistisch durch Histamin beeinflusst wird; sie schliessen daraus, dass Nikotin vorwiegend über ganglionäre Lähmung die Peristaltik zum Sistieren bringt. AMBACHE und EDWARDS (1) nehmen ebenfalls eine ganglionäre Wirkung an, da die durch Nikotin hervorgerufene Anregung des Darmes durch Atropin unterdrückt und in eine hemmende Wirkung überführt werden kann. Im Gegensatz dazu stehen die Untersuchungen von ELLIS und RASMUSSEN (9), bei denen Atropin die durch Nikotin ausgelösten Effekte nur etwas reduziert. Die Anregung des Darmes durch Nikotin bleibt also bestehen. Auch hier wird angenommen, dass die Nikotin-Aktion durch Nerven übermittelt wird. RICHTER (39) gibt an, dass die Nikotinwirkung rein muskulär bedingt sei: Nikotin erzeuge den Darm in geringen Konzentrationen, in höherer Dosierung lähmt es die Peristaltik. Durch Atropin sei dieser Effekt zu unterdrücken - hierbei sei die Atropinmenge für ein Einwirken auf Ganglienzellen zu gering, könne also nur in der Peripherie angreifen. FELDBERG (11) tritt ebenfalls für einen direkten Einfluss von Nikotin auf die glatten Muskelfasern ein: Hexamethonium lähmt die Ganglienzelle und hebt dadurch die Erregung des isolierten Darmes durch kleine Mengen Nikotin auf; grössere Nikotindosen rufen die Erregung noch hervor. Demnach wirkt Nikotin in kleinen Mengen vorwiegend über ganglionäre Reize - die Reizschwelle für die direkte Wirkung liegt höher.

Soll ein Effekt von Nikotin auf die glatte Muskulatur festgestellt werden, so muss als Testobjekt ein Organ gewählt werden, das im Bereich der Muskelzellen keine Ganglienzellen enthält. Diese Bedingung wird von der Iris des Auges erfüllt. PERRY (37) injizierte 250 mg Nikotin i. a. und erzeugte damit eine Kontraktion der Pupille; in diesem Stadium blieben postganglionär gesetzte Reize wirksam, während präganglionär gesetzte Reize unwirksam waren. Nach Durchtrennen des kurzen Ciliarnerven hatte Nikotin keinen Effekt mehr auf die Pupille.

Beides spricht dafür, dass hier Nikotin am Ganglion angreift, die Kontraktion der Pupille also auf nervalem Weg ausgelöst wird. Demnach kann die Iris keine Ganglienzellen enthalten. Eine direkte Wirkung von Nikotin auf die Iris ist damit jedoch noch nicht auszuschliessen; da aber keine direkte Wirkung an der Pupille auftritt, kann daraus geschlossen werden, dass die Dosis ausreicht für einen Effekt an der Ganglienzelle, nicht jedoch ausreicht für eine direkte Wirkung, die durch höhere Dosen erzeugt werden könnte. SCHOFIELD (49) zeigte bei gleichen Untersuchungen eine Dilatation der Pupille; er stellte aber fest, dass Nikotin keinen Effekt an der isolierten Iris besitzt, ausser in sehr hoher Konzentration (3 mg/Liter entsprechen etwa 10^{-2} Mol/Liter), wobei die Reaktion nicht als spezifisch angesehen werden könne.

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag liefern, eine Antwort auf die Frage zu finden, ob Nikotin an der glatten Muskelfaser einen direkten Effekt hervorbringt. Um etwaige Längen- oder Tonusänderungen nach Nikotin mit solchen nach physiologisch wirksamen Stoffen vergleichen zu können, werden zuerst Untersuchungen mit Acetylcholin und mit Noradrenalin durchgeführt.

M E T H O D I K

1) Präparat:

Die Untersuchungen wurden vorgenommen an Sphinkteren von Kalbs- und Schweinsaugen, die täglich vom Schlachthof geholt wurden. Es wurde Wert darauf gelegt, dass die Augen sofort nach Tötung der Tiere in eisgekühlte Tyrodelösung gebracht wurden und darin bis zur Präparation der Sphinkteren blieben. Diese erfolgte in Sauerstoffgesättigter Lösung (Tyrodelösung) (47). Bis zur Präparation vergingen 1 - 6 Stunden, da die Muskeln erst kurz vor dem Versuchsbeginn isoliert wurden. Die Augen länger als 6 Stunden ohne Sauerstoffdepot, in der Augenkammer (HESS, 23) in eisgekühlter Tyrodelösung zu lassen, erwies sich als ungünstig, da die Empfindlichkeit auf elektrische Reize oder Acetylcholin sinkt, was zu falschen Ergebnissen führen kann. Deshalb wurden an Muskeln, die länger als 5 - 6 Stunden vor der Präparation lagerten, keine Versuche durchgeführt. Die Sphinkteren kontrahieren sich bei der Präparation. Nach Einhängen in die Registriervorrichtung wurden sie in Tyrodelösung auf 37° C erwärmt; durch einen Thermostaten blieb diese Temperatur während der Versuchsreihen konstant. Die Kontraktion der Schliessmuskeln lässt dann auf geringe passive Dehnung hin nach, bis sich ein Gleichgewicht zwischen aktiver und passiver Spannung eingestellt hat (23).

2) Registriervorrichtung:

Die Tonusänderungen der ringförmigen Muskeln wurden mit Hilfe eines Glasfadens, der mit 2 Haken versehen ist, auf einen kleinen Hebel übertragen. Die Achse des Hebels besteht aus einem feinen Draht, dessen Torsion die Gegenkraft zur Arbeit des Muskels darstellt. Die Muskeln sind durch einen Metallhaken am Boden des Gefässes fixiert. Mit Hilfe einer Verstellschraube konnte der Abstand zwischen dem festen Haken und dem Glasfaden vergrößert werden; dadurch wurde die passive Spannung der Präparate erhöht. Über dem Drehpunkt des Hebels befindet sich ein Spiegel, der von einer Spaltlampe beleuchtet wurde. Der opti-

sche Hebelarm beträgt etwa 2 Meter. Die Ausschläge des Lichtstrahles werden photokymographisch registriert.

3) Eichung:

Durch Anhängen von feinsten Gewichten wurde die Versuchsanordnung geeicht. 20 mg Belastung ergeben einen Ausschlag von 7,5 cm. Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, ist der Ausschlag proportional der Belastung. Vor jedem Versuch wurde erneut geeicht, um auf den Kurven gleichzeitig den Mass-stat zu besitzen.

4) Lösungen:

Die Präparate befinden sich in Tyrodelösung (35), die dauernd mit Sauerstoff durchperlt wird. Zu 9 ccm Tyrodelösung wurde bei den Versuchen jeweils 1 ccm einer bekannten Lösung aus der Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Stoffes gegeben. Die Verdünnungsreihen wurden, ausgehend von einer molaren Lösung, im Verhältnis 1 : 10 mit Tyrodelösung hergestellt. Die Endkonzentration im Muskelbad beträgt dann 1/10 der Konzentration des zugeführten Stoffes, also statt 1-molar 10^{-1} molar, statt 10^{-1} Mol/Liter 10^{-2} Mol/Liter usw. Vor der Zugabe in das Muskelbad wurde die Wirkstofflösung vorgewärmt auf 37°C , um Temperaturschwankungen zu vermeiden. Die Lösungen mischen sich bei raschem Einspritzen in 1 - 2 Sekunden, wie Farbstoffversuche ergaben. Durch das rasche Einspritzen und die aufsteigenden Luftblasen lassen sich Wirbelbildungen und kleine Erschütterungen nicht ganz vermeiden, die jedoch den Ablauf der Spannungsänderungen im Allgemeinen wenig beeinflussen.

ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN

1) Acetylcholin

Als Ausgangsspannung der Muskeln wurden 5 mg Belastung gewählt. Damit war die Möglichkeit gegeben, eine Spannungszunahme oder eine Spannungsabnahme zu messen.

Die Muskeln wurden verschiedenen Acetylcholinlösungen ausgesetzt. Es erfolgte eine Kontraktion, der sich ein etwas länger dauernder Abfall der Spannung anschloss (Abb. 2). Der Beginn der Kontraktion setzt meistens sehr rasch ein. Bei sehr hoher Dosierung (10^{-4} Mol/Liter) beginnt die Kontraktion sofort bei Zuführen des Acetylcholins (A.Ch.). Bei geringerer Dosis beträgt die Latenzzeit etwa 3 - 6 Sekunden (10^{-8} molar). Setzt man dem gleichen Muskel mehrmals die gleiche Dosis A.Ch. zu, so reagiert der Muskel schneller. Zwischendurch muss jedesmal wiederholt mit frischer Tyrodelösung ausgewaschen werden. Nach der verkürzten Latenzzeit erfolgt fast immer die gleiche Kontraktion in gleicher Grösse. Schwankungen um $\pm 1 - 2$ mg können durch exogene Ursachen hervorgerufen sein.

Die Dauer der Kontraktion bis zur grössten Spannung schwankt zwischen 2 - 5 Sekunden. Diejenigen Muskeln, die in den ersten Stunden nach Töten des Tieres zur Untersuchung kamen, erwiesen sich als reaktionsfreudiger, d.h. die Anspannungszeit war kürzer als bei den Präparaten, die längere Zeit kühl aufbewahrt waren (4 - 6 Stunden).

Die Dauer der 2. Phase (= Erschlaffungsphase) hängt im Wesentlichen ab von der Konzentration des einwirkenden Stoffes: In 10^{-8} molarer A.Ch.-Lösung erstreckt sich diese Phase über 15 - 20 Sekunden, in 10^{-9} molarer Lösung über 10 - 15 Sekunden. Nach einer hohen Dosis (etwa 10^{-5} molar und mehr) kehrte die Spannung nicht wieder auf den Ausgangswert zurück. Dieser Resttonus ist umso grösser, je grösser die A.Ch.-Dosis war (siehe Tabelle auf S. 11).

Versuch 38 (Erklärung siehe Seite 10):

A.Ch. -Konzentr. molar	Dauer des Tonusabfalls	Restspannung
$3 \cdot 10^{-8}$	7 Sek.	-
$3 \cdot 10^{-7}$	13 Sek.	-
$3 \cdot 10^{-6}$	12 Sek.	4 mg
10^{-5}	24 Sek.	10 mg

Schwellendosis: Als Schwellendosis wird diejenige Dosis bezeichnet, die noch eine Kontraktion bewirkt, während eine etwas schwächere Dosis keine Kontraktion mehr hervorruft. Nach mehrmaligem Auswaschen lässt sich die Kontraktion durch dieselbe Dosis wieder auslösen. (Die Kontraktionen lassen sich unterscheiden von Bewegungen, die während des Einspritzens der A.Ch.-Lösungen durch Wirbelbildung entstehen). Die Schwellendosis von A.Ch. liegt zwischen $5 \cdot 10^{-7}$ und $5 \cdot 10^{-10}$ Mol/Liter. Die Verteilungskurve zeigt einen deutlichen Gipfel bei 10^{-8} bis $8 \cdot 10^{-9}$ Mol/Liter (Abb. 4).

Die Grösse der Kontraktion hängt von der Menge des zugefügten A.Ch. ab. Steigert man die Dosis, so erhält man immer grössere Kontraktionen. Zunächst nimmt die Stärke der Kontraktion nur wenig zu (gemessen in mg), um dann bei grösserer Konzentration rasch zu steigen. Bei Versuch 38 befindet sich dieser Punkt bei $3 \cdot 10^{-6}$ Mol/Liter (Abb. 3).

2) Adrenalin

Zunächst wurde der Muskel unter eine Spannung von 15 mg gesetzt. Manchmal lässt der Tonus der Sphinkteren daraufhin nach, sodass die Ausgangslage nicht immer auf 15 mg gehalten werden konnte.

Durch Hinzufügen von Adrenalin nimmt der Tonus der Sphinkteren ab (Abb. 5). Dieser Spannungsabfall tritt erst nach einer kurzen Latenzzeit ein. Durch das Einspritzen der Adrenalinlösungen kommt es gelegentlich

zu Tonusschwankungen, ehe der eigentliche Spannungsabfall eintritt. Dieser lässt sich bei hoher Dosierung früher beobachten als bei geringerer Dosierung. So tritt der Tonusabfall bei einer Lösung von 10^{-5} molar im Mittel nach 7 Sekunden, bei einer Lösung von 10^{-8} Mol/Liter erst nach 11 Sekunden im Durchschnitt ein. Es kommen jedoch starke Schwankungen vor.

Der Tonusverlust geht nicht gleichmässig vonstatten. Zunächst fällt die Spannung steil ab, um dann langsam in den Endwert überzugehen. Bei schwacher Dosierung ist der Spannungsabfall ausgeglichener. Gelegentlich, besonders nach einer sehr hohen Dosis (10^{-4} molar), steigt der Tonus zunächst etwas an - etwa 5 bis 10 mg -, ehe er wieder abnimmt. Die Zeit, die der Muskel braucht, um die Endspannung einzunehmen, ist sehr verschieden. Ein Beispiel mag dies verdeutlichen (Versuch 44):

Dosis	Tonusabfall	Sekunden
10^{-8}	1 mg	50
10^{-7}	3 mg	48
10^{-6}	5 mg	100
$2 \cdot 10^{-6}$	6 mg	20
$6 \cdot 10^{-6}$	8 mg	50
10^{-5}	11 mg	30
10^{-4}	10 mg	15

Bei anderen Muskeln ist die Zeit, in welcher der Muskel sich entspannt, jedesmal annähernd gleich gross; Ein Tonusabfall zwischen 3 bis 5, 5 mg in 20 bis 25 Sekunden.

Die Schwellendosis des Adrenalins liegt bei 10^{-9} Mol/Liter. Ein Muskel sprach schon auf 10^{-10} Mol/Liter mit einem Tonusverlust von 2 mg an, bei geringerer Dosis lässt sich keine deutliche Wirkung mehr nachweisen. Einige Muskeln entspannten sich auch erst bei einer Konzentration von 10^{-8} molar.

Steigert man die Dosis des zugeführten Adrenalins, so ist der Spannungs-

abfall grösser. Er ist etwa proportional der Wirkstoffkonzentration, es kommen jedoch grössere Abweichungen vor (Abb. 6).

3) Nikotin

Zur Untersuchung wurde Nikotinbitartrat verwendet. Als Anfangsbelastung wurden zunächst 5 bis 10 mg vorgesehen, bei späteren Versuchen betrug sie etwa 15 mg. Diese Änderung erwies sich als nötig, weil Nikotin auf die Sphinkteren erschlaffend wirkte (Abb. 8). Stieg die Konzentration auf 10^{-2} Mol/Liter und darüber, so findet sich häufig zuerst eine Zunahme des Tonus, dann erst eine Abnahme. Gelegentlich blieb diese Zunahme des Tonus auch als Kontraktur bestehen. Ein Muskel reagierte bei jeder Dosis mit einer kurzen Kontraktion von 2 - 3 mg in 5 - 10 Sekunden, ehe er erschlaffte.

Die Latenzzeit ist sehr wechselnd. Nach sehr hohen Dosen beträgt sie im Mittel 5 Sekunden. Selten reagierte der Muskel sofort, d. h. noch während Nikotin zugeführt wurde; andererseits findet man Muskeln, die erst nach 10 Sekunden beginnen, zu erschlaffen. Bei geringer Dosierung ($5 \cdot 10^{-5}$ molar) beträgt der Durchschnitt etwa 10 Sekunden. Auch bei Versuchen an einem Muskel traten unterschiedliche Latenzzeiten auf (Versuch 56):

Konzentr.	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	molar
Latenzzeit	11	5	20	6	Sekund

Die Schwellendosis für Nikotin beträgt in den vorliegenden Versuchen zwischen 10^{-4} und 10^{-6} Mol/Liter (Abb. 10). Die meisten Muskeln reagierten mit einer Erschlaffung bei 10^{-5} Mol/Liter, viele brauchten jedoch das 5- bis 10-fache dieser Dosis. Eine geringere Menge brachte nur in 3 Fällen Erfolg; in einem Fall genügten 10^{-6} Mol/Liter.

Der Erfolg, der an den Sphinkteren durch Nikotinbitartrat hervorgerufen wird, ist umso grösser, je höher die zugeführte Menge Nikotin ist. Bei

der Schwellendosis beträgt der Spannungsabfall nur 1 bis 2 mg, nimmt dann bei steigender Konzentration rasch zu. Bei einem starken Reiz durch hohe Dosen (10^{-2} bis 10^{-3} m Nikotin/Liter) tritt oft keine weitere Zunahme der Wirkung ein; der Muskel behält in diesen Fällen immer noch einen Resttonus von einigen Milligrammen. Nur selten verlor ein Sphinkter seinen Tonus vollständig. Spannt sich der Muskel jedoch stark an, ehe er erschlafft, so resultiert meist eine höhere Restspannung, d.h. dass zwischen Anfangs- und Endspannung nur eine geringe Differenz besteht. Diese kann kleiner sein als bei schwächeren Reizen durch niedere Dosen. Gelegentlich bleibt die Endspannung unter der Wirkung von 10^{-2} Mol/Liter auch höher als der Anfangstonus.

(Abb. 9: Dosis-Wirkungskurve für Nikotinbitartrat)

4) Wirkung von elektrischen Reizen oder Acetylcholin an Sphinkteren, die unter Nikotineinfluss stehen

Bevor zur Tyrodelösung ein Wirkstoff hinzugegeben wurde, wurde jeder Muskel elektrisch gereizt. Die Kontraktion gilt als Vergleichswert. Wenn die Sphinkteren sich in einer 10^{-2} molaren Nikotin-Lösung befinden, reagieren sie auf elektrische Reize schwächer als zu Beginn des Versuches. Sinkt die Nikotin-Konzentration, so werden die Kontraktionen auf den Stromstoss hin grösser. Schon in einer Lösung von 10^{-3} Mol Nikotin/Liter ist die Kontraktion grösser als der Vergleichswert. Jedesmal wurden die gleichen Stromstösse gegeben.

	Vers. 51	Vers. 52
el. Reiz ohne Nikot.	14 mg	16 mg
mit 10^{-2} m/L	4 mg	4 mg
mit 10^{-3} m/L	22 mg	25 mg

Um den Erfolg der A.Ch.-Reize unter Nikotineinfluss vergleichen zu können, wurde zuerst dem Muskelbad nur A.Ch. hinzugefügt, ohne dass die Muskeln einem andern Wirkstoff ausgesetzt waren. Nachdem die Tyrodelösung erneuert war, wurde Nikotin zugeführt. War der Muskel vollständig entspannt, wurde A.Ch. dem Muskelbad beigemischt. Die Grösse der Kontraktionen nach A.Ch. ändert sich unter Nikotin nur wenig. In einigen Versuchen blieb der zeitliche Ablauf sowie ihre Grösse unverändert. Versuch 69: 10^{-6} Mol A.Ch./Liter riefen eine kurzzeitige Spannungszunahme (Dauer 28 Sek.) von 2,5 mg hervor; unter der Einwirkung von Nikotin (10^{-2} molar) betrug sie 2 mg bei einer Dauer von 23 Sekunden bei gleicher Latenzzeit. In einem Fall war die Wirkung des A.Ch. geringer (5 mg) unter Nikotineinfluss als ohne diesen (9 mg). Bei anderen Versuchen kontrahierte sich der Muskel etwas stärker, nachdem er durch Nikotin erschlaft war. Hierbei dauerte die Kontraktion etwas länger, während die Latenzzeit nur unwesentlich schwankte.

5) Hexamethonium

Nach Hexamethonium erschlaffen die Sphinkteren der Iris (Abb. 11). Die Muskeln wurden zu Beginn der Versuche auf eine Spannung von etwa 15 mg gebracht. Unter dem Einfluss von Hexamethonium lässt diese nur wenig nach. Auch nach einer hohen Dosis verringert sich der Tonus nur um etwa $1/3$ seines Ausgangswertes. Gelegentlich zeigt sich direkt nach der Zufuhr des Wirkstoffes eine kurze Kontraktion von wenigen Milligramm.

Die Latenzzeit ist ziemlich konstant. Bis auf wenige Ausnahmen beträgt sie 8 - 10 Sekunden unabhängig von der Dosis. Einmal reagierte ein Muskel auf 10^{-3} Mol Hexamethonium/Liter sofort. In einigen Fällen betrug die Latenzzeit 3 - 5 Sekunden. Selten dauerte es bei geringerer Menge des Reizstoffes auch länger, bis der Muskel zu erschlaffen begann.

Der Spannungsabfall selbst geht meist langsam und gleichmässig vonstatten. Bei einem Abfall von 5 mg dauert es länger als bei einem Abfall von 2,5 mg.

Versuch 81:

Dosis	10^{-7}	10^{-4}	mol/Lit.
Tonusabnahme	2,5	5	mg
Zeit	18	45	Sek.

Bei anderen Versuchen bleibt die Dauer der Tonusabnahme annähernd gleich (Versuch 84: 25 - 30 Sek.). Es kommen jedoch auch längere Zeiten bei anderen Muskeln vor. Eine schnellere Reaktion auf hohe Dosen im Vergleich zu kleinen Dosen lässt sich nicht beobachten.

Die Wirkung des Hexamethoniums zeigt sich schon in Verdünnungen von 10^{-7} bis 10^{-8} Mol/Liter. (Abb. 13). Die noch wirksame Substanzmenge betrug in der Mehrzahl der Fälle etwa $5 \cdot 10^{-8}$ Mol/Liter. Unterhalb dieser Grenze findet man nur noch vereinzelte sichere Effekte an den Sphinkteren.

Bei steigender Konzentration ist auch die Wirkung grösser; es wird jedoch rasch eine konstante Grösse des Tonusabfalles erreicht, die bei weiter ansteigender Konzentration nicht mehr überschritten wird (Abb. 12). Das ist bei etwa 5 bis 5,5 mg Tonusverlust von 14 bis 16 mg Ausgangslage der Fall. Nur einmal liess die Muskelkraft von 14 bis auf 5 mg nach bei einer Lösung von 10^{-3} Mol Hexamethonium/Liter.

6) Wirkung von Hexamethonium und Nikotin bzw. Adrenalin

Nikotinbitartrat und nor-Adrenalin bewirken auch unter Einfluss von Hexamethonium eine Erschlaffung der Sphinkteren. Da die Muskeln auch nach Hexamethonium erschlaffen, ist der Gesamteffekt grösser. Wird Nikotin bzw. Adrenalin vor Hexamethonium gegeben, ändert sich auch an dessen Wirkung nichts. 10^{-4} oder 10^{-3} Mol Hexamethonium/Liter wurden den Präparaten zugeführt und der Effekt gemessen. Anschliessend wurde ausgewaschen und die Reaktion auf Nikotin oder Adrenalin be-

stimmt. Dazu wurden 10^{-5} oder 10^{-6} Mol Adrenalin/Liter den Muskeln zugefügt; die Menge des Nikotins betrug 10^{-4} Mol/Liter. Damit waren Vergleichswerte für die Versuche mit mehreren der angegebenen Stoffe gleichzeitig gegeben.

Jetzt wurde zunächst Hexamethonium und anschliessend Nikotin (bzw. Adrenalin) gegeben; beim nächsten Versuch zuerst Nikotin oder Adrenalin und dann Hexamethonium. Schliesslich wurde beides zusammen gleichzeitig der Lösung, in der sich die Muskeln befinden, beigegeben.

Die Grösse des Spannungsabfalles auf die einzelnen Reizstoffe hin bleibt auch nach vorheriger Gabe eines anderen Stoffes fast gleich. Geringe Schwankungen kommen vor. Jedes Mal vor Zufügen eines neuen Stoffes wurde wieder eine Ausgangsspannung von etwa 15 mg hergestellt. Gibt man beide Wirkstoffe zusammen, so addieren sich beide Wirkungen. Das gilt sowohl für die Kombination von Nikotin mit Hexamethonium wie auch für die Kombination von Adrenalin mit Hexamethonium. Dies lässt sich aus den Tabellen für Versuch 87 und Versuch 81 leicht ablesen:

Versuch 87:

Wirkstoff	Tonusverlust
Nikotin	5 mg
Hexameth.	4 mg
Nikot. nach Hex.	4 mg
Hexam. nach Nik.	4 mg
Nikot. + Hexam.	8,5 mg (statt 9 mg)

Versuch 81:

Adrenalin	9,5 mg
Hexamethonium	5,5 mg
Adren. + Hexam.	15,5 mg (statt 15 mg)

Die Latenzzeit bis zum Wirkungseintritt eines der drei Stoffe bleibt am gleichen Muskel bis auf kleine Differenzen immer gleich. Es spielt hier-

bei keine Rolle, ob direkt vorher schon ein anderer Stoff gegeben wurde. Gibt man zwei Stoffe gleichzeitig, so ist die Latenzzeit meist deutlich verkürzt.

Auch die Zeit, während der sich der Muskel entspannt, ändert sich nicht wesentlich. Kleine Unterschiede lassen sich feststellen. Gibt man Hexamethonium und Nikotin zusammen, so dauert es länger, bis der dadurch bedingte grössere Tonusverlust beendet ist.

7) Dihydroergotamin

Dihydroergotamin (DHE) bewirkt eine Spannungszunahme der Sphinkteren (Abb. 14). Gelegentlich tritt noch während des Zuführens des Agens eine geringe Tonusabnahme auf. Der Anstieg des Tonus setzt dann nach 10 bis 20 Sekunden ein. Nach geringen Dosen lässt sich meistens eine um wenige Sekunden verlängerte Latenzzeit beobachten. Der Unterschied fällt aber nicht besonders auf, da die Konzentration in engen Grenzen bleibt.

Die Zeit, in welcher der Muskel sich kontrahiert, ist sehr verschieden: bei einigen dauert der Vorgang 40 bis 60 Sekunden, bei anderen über 90 Sekunden. Steigt der Tonus nach der doppelten Menge DHE stark an, so erstreckt sich der Effekt auch über längere Zeit. Bleibt der Tonusanstieg bei erhöhter Dosis jedoch annähernd gleich, so verkürzt sich die Zeit, in welcher der Muskel sich anspannt.

Die Reizschwelle des DHE liegt bei etwa 10^{-4} Mol/Liter (Abb. 15). Einmal ergab sich schon bei $3 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter eine Spannungsverstärkung von 2 mg, während unterhalb dieser Menge DHE keine eindeutige Wirkung mehr festzustellen war. Bei diesem Versuch nahm der Muskelzug bei Reizen durch 10^{-4} Mol/Liter um 4 mg zu, während bei der dreifachen Dosis bereits ein Anstieg um 20 mg zu registrieren war. Im Allgemeinen betrug die Tonuszunahme nicht so hohe Werte:

Versuch 102:

DHE Mol/Lit.	mg Anstieg
$1,5 \cdot 10^{-4}$	6
$3 \cdot 10^{-4}$	10
$5 \cdot 10^{-4}$	13

Der Tonus stieg hierbei etwa linear an. Andere Präparate reagierten überhaupt nur schwach auf DHE: Versuch 93:

DHE Mol/Lit.	mg Anstieg
$1,5 \cdot 10^{-4}$	2,5
$3 \cdot 10^{-4}$	3

Bei allen Versuchen wurde möglichst eine Ausgangslage von 5 bis 7 mg angestrebt. In einem Fall wurde derselbe Muskel mit der gleichen Menge DHE ($3 \cdot 10^{-4}$ molar) bei verschiedener Anfangsspannung gereizt:

Anfangsspannung	Anstieg (mg)
7 mg	5
10 mg	2

Bei erhöhter Grundspannung ist der Erfolg also geringer.

8) Wirkung von Adrenalin nach DHE

Zunächst wurde dem Muskelbad DHE zugeführt. Nachdem die neue Gleichgewichtslage eingetreten war, wurde Adrenalin hinzugefügt. Die Reaktion darauf war bei den einzelnen Muskeln verschieden: eine besondere Rolle spielt dabei verständlicherweise die Konzentration. Adrenalin wurde in einer Konzentration von 10^{-6} bis 10^{-5} Mol/Liter verwandt. Vor der ersten Dihydroergotamin-Gabe wurde jeweils ein Versuch mit Adrenalin gemacht, um einen Vergleichswert zu bekommen. Eventuell wurde dies während der Versuchsreihe nochmals wiederholt. Die gewählte Menge des Adrenalins sicherte nach den früheren Versuchen einen deutlichen Effekt. Die Menge des DHE wechselte zwischen 10^{-4} bis $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter.

Die Wirkung von 10^{-5} Mol Adrenalin im Liter tritt auch noch nach $5 \cdot 10^{-4}$ Mol DHE/Liter auf. Die Tonusabnahme bleibt hierbei etwa gleich gross. Nimmt man nur $5 \cdot 10^{-6}$ Mol Adrenalin/Liter, so konnte keine erschlaffende Wirkung mehr nachgewiesen werden (Abb. 16). In einem Versuch zeigte der Muskel nach Zuführen einer 10^{-5} molaren Adrenalinlösung einen Tonusverlust nach vorheriger Gabe von $3 \cdot 10^{-4}$ Mol DHE/Liter. Nach $4, 5 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter erfolgte bei gleicher AdrenalinKonzentration eine kurze Kontraktion; dann stellte sich der Muskel wieder auf die Ausgangsspannung ein. Als die Dosis des DHE nochmals erhöht wurde, zeigte der Muskel eine deutliche Tonuszunahme ($6 \cdot 10^{-4}$ molare DHE-Lösung).

Bei einer geringeren Menge Adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ oder 10^{-6} molar) lässt sich häufiger die Wirkung dieses Stoffes durch DHE unterdrücken. Dazu wurde meistens eine Konzentration von $3 \cdot 10^{-4}$ Mol DHE/Liter benötigt, jedoch genügte gelegentlich auch schon 10^{-4} bis $2 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter. In einem Fall sank die durch DHE erzeugte Spannung nach Erreichen eines Gipfels wieder ab; deshalb konnte nicht festgestellt werden, ob Adrenalin seine Wirkung noch hervorrief oder nicht.

Der Wirkungseintritt nach Adrenalinzugabe wird nicht beschleunigt oder hinausgezögert, wenn vorher DHE zugeführt worden ist. Die Latenzzeit entspricht also derjenigen bei Reizen mit Adrenalin ohne vorherige Gabe von DHE. Tritt unter Dihydroergotamin-Einfluss noch eine Erschlaffung auf Adrenalin ein, so verläuft diese meistens viel langsamer; es wird etwa die doppelte Zeit benötigt:

Versuch 95:

Adrenalin	DHE vorher	Zeit
10^{-5} Mol/L	-	25 Sek.
10^{-5} Mol/L	$5 \cdot 10^{-4}$ M/L	60 Sek.

9) Wirkung von Nikotin nach Dihydroergotamin

Die Versuche wurden so vorgenommen, wie im vorigen Kapitel angegeben wurde. Zunächst wurde Nikotin allein als Vergleichswert an den Irisschliessmuskeln geprüft. Die Dosis betrug 10^{-4} bis 10^{-6} Mol/Liter. Anschliessend wurde nach mehrmaligem Auswaschen mit frischer Tyrodelösung DHE in derselben Konzentration wie bei den Versuchen mit Adrenalin nach DHE zugefügt (10^{-4} bis $5 \cdot 10^{-4}$ molar).

Die Wirkung jeder Nikotingabe trat auch nach DHE auf (Abb. 17). Die Tonusabnahme bleibt dabei in ihrer Grösse meistens gleich, unabhängig davon, ob der Muskel unter dem Einfluss von DHE steht oder nicht. Gelegentlich ist der Tonusverlust auch etwas verringert oder auch etwas erhöht, wenn vorher DHE gegeben wurde. In keinem Fall wurde die Nikotinwirkung durch Dihydroergotamin unterdrückt.

Unter DHE-Einfluss verläuft die Spannungsabnahme auf Nikotinreize hin verlangsamt. Der Wirkungseintritt verzögert sich um wenige Sekunden; der Muskel entspannt sich ebenfalls langsamer, wenn er mit DHE vorbehandelt ist. Insgesamt wird etwa die ein-einhalb-fache bis zweifache Zeit benötigt, bis der Muskel die neue Endlage erreicht hat. Je höher die DHE-Konzentration im Muskelbad gewählt wurde, umso langsamer scheint die Reaktion zu verlaufen.

In einigen Fällen zeigte das Präparat lebhaftes Spontanrhythmus. Dadurch wird die Wirkung der Pharmaka überdeckt, sodass sie nicht so deutlich zu Tage tritt. Der Tonusabfall ist in diesen Fällen auch nur gering; die Nikotinwirkung kann aber noch beobachtet werden.

Neben der Erschlaffung trat bei einigen Versuchen zunächst auch wieder eine kurze, geringe Kontraktion auf, die aber rasch in die Erschlaffung übergeht. Dieser Effekt konnte schon früher bei den Versuchen mit Nikotin an einigen Sphinkteren gezeigt werden (Seite 13).

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Wirkung des Acetylcholins (A.Ch.) auf isolierte Sphinkteren des Auges lässt sich in zwei Abschnitte unterteilen. Zunächst erfolgt eine Spannungszunahme - Kontraktion -; der Abfall auf die Ausgangsspannung tritt dann nur unter schwacher Reizung durch geringe Konzentration ein, bei höherer Dosierung bleibt eine Restspannung erhalten. Die Relaxation beträgt nach RÜEGG und HESS (47) 50 %. Die hierbei verwendete Konzentration betrug $5 \cdot 10^{-6}$ bis $5 \cdot 10^{-5}$ g/ml, das entspricht etwa $3 \cdot 10^{-5}$ bis $3 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter. Dies deckt sich mit den vorliegenden Untersuchungen, wobei eine Dosierung um 10^{-5} Mol/Liter ebenfalls eine beträchtliche Restspannung zurücklässt, die jedoch nur 25 bis 30 % der Grösse der vorangegangenen Kontraktion beträgt. Das Phänomen der initialen Kontraktion war schon länger bekannt: HESS (23) deutet das Nachlassen der Spannung dahin, dass einerseits die Gegenkraft der Registriervorrichtung grösser als vorher ist, und der Muskel daraufhin mit einer passiven Dehnung antwortet. Andererseits nimmt er eine Zersetzung des A.Ch. durch die Cholinesterase des Gewebes an. Die Restspannung bei höheren Dosen beruht demnach auf einem A.Ch.-Gleichgewicht in der Badeflüssigkeit. Da jedoch die Cholinesterase nach einer katalytischen Reaktion immer wieder frei zur Verfügung steht, so müsste die Reaktion weiterlaufen, und damit die Spannung laufend abnehmen, bis die Ausgangsspannung wieder erreicht ist. Die beobachtete Restspannung bleibt jedoch in gleicher Stärke bestehen, nach Auswaschung mit frischer, A.Ch.-freier Tyrodelösung entspricht die Spannung wieder derjenigen vor dem Versuch. Es liegt daher die Deutung nahe, dass jeweils zunächst eine überschüssende Reaktion in Form einer Kontraktion auf A.Ch. hin erfolgt, höhere Dosen A.Ch. aber ausserdem noch eine Dauerspannung bewirken, die nicht so gross ist wie die Kontraktion, jedoch noch höher als die Ausgangsspannung liegt.

Um die Wirkung kleinster A.Ch.-Mengen noch feststellen zu können, wird deshalb die initiale Kontraktion der Präparate ausschlaggebend sein; denn eine Kontraktion tritt schon bei geringerer Dosierung ein. In frühe-

ren Arbeiten (KÜENZLE und WASER (32), HESS und Mitarbeiter (25), RÜEGG und HESS (47), BEAN und BOHR (3), GUNTER und MULINOS (20)) wird die Reizschwelle in verschiedener Grösse angegeben mit $5 \cdot 10^{-7}$ bis $3 \cdot 10^{-6}$ Mol A.Ch./Liter. In den vorliegenden Versuchen gelang es aber, mit noch geringeren Mengen eine Kontraktion hervorzurufen. Bei sehr feiner Registrierung müsste es vielleicht sogar gelingen, bei noch schwächerer Dosis als in diesen Versuchen einen Erfolg zu bekommen. BRECHT (4) konnte an anderen Präparaten (Durchströmungspräparat der Froschlunge) unter günstigsten Bedingungen noch eine Kontraktion der glatten Muskelzellen durch A.Ch. Mengen von 10^{-17} bis 10^{-20} g hervorrufen. Die in vivo physiologisch wirksamen Dosen sind wahrscheinlich immer geringer als die pharmakologisch in vitro zur Untersuchung gelangenden Mengen, da die ersteren nur am Receptor freigesetzt werden, während die letzteren sich auf das ganze Präparat verteilen.

Steigt die Konzentration des A.Ch. an, so erfolgt auch eine grössere Kontraktion der Ringmuskeln. In einer Arbeit von HESS und Mitarbeitern (25) wird darauf hingewiesen, dass die initiale Kontraktionszacke wenig geeignet sei, die Relation zwischen Reizgrösse und Wirkung festzustellen; die Autoren halten sich hierbei an die anschliessende Gleichgewichtslage. Um jedoch die Wirkung der kleinen A.Ch. Mengen noch in die Dosis-Wirkungsrelation einzubeziehen, muss man sich an die Kontraktionen halten. Die Dosis-Wirkungskurve verläuft für A.Ch. S-förmig (32). Im unteren Bereich erscheint die Kurve gradlinig. In dem Moment, in dem die Tonuszunahme grösser wird, tritt auch eine Restspannung auf. Nach sehr hohen Dosen scheint eine obere Grenze der Kontraktionsfähigkeit eines Muskels erreicht zu werden. Diese betrug zwischen 60 mg und 80 mg. In der Arbeit von HESS (25) wird als maximale Spannung für Schweinesphinkteren 40 mg, für Rindersphinkteren 25 mg angegeben. Die grössere Tonuszunahme erklärt sich wahrscheinlich daraus, dass im einen Fall die Gleichgewichtslage, im anderen Fall aber die Kontraktion als Mass genommen wurde. KÜENZLE und WASER (32) nehmen an, dass die S-Form der Dosis-Wirkungskurve muskelbedingt ist.

Die Tonusänderungen verlaufen im Gegensatz zu elektrischen Reizen träge (siehe auch HESS (23)); die Latenzzeit hängt zum Teil davon ab, wie schnell der Wirkstoff den Muskel und dann die Receptoren erreicht. Damit lassen sich geringe Differenzen erklären. Der sofortige Reaktions-

beginn bei höheren Dosen kommt wohl daher, dass die Reizschwelle während der A.Ch. - Zufuhr schneller überschritten wird. Wahrscheinlich spielt bei der verschiedenen Latenzzeit unterschiedlicher Dosen auch die Diffusion bis zu den Rezeptoren der Organe eine Rolle, die durch den höheren Partialdruck grösserer Mengen beschleunigt wird. Ein steiler Anstieg der Spannung in kurzer Zeit wird auch von anderen Autoren berichtet: RÜEGG und HESS (47), HESS und Mitarbeiter (25).

Ein Erschlaffen der Sphinkter auf Adrenalin stellte schon POOS (38) fest. Die Frage einer Doppelinnervation an einem glatten Muskel wurde von KOELLA und RÜEGG (30) wieder aufgegriffen. Danach tritt eine deutliche Tonusabnahme nach Adrenalin auf, die umso prägnanter ist, je grösser die Ausgangslage der Präparate war. In den vorliegenden Versuchen wurde deshalb möglichst immer eine Anfangsspannung gleicher Höhe angestrebt, um den Abfall des Tonus vergleichen zu können, der bei den einzelnen Versuchen auftrat. Bei passivem Dehnen trat entweder eine grosse Spannung der Irisschliessmuskeln ein, oder es erfolgte eine Längenzunahme mit geringerem Tonus (siehe auch KOELLA und RÜEGG (30)). Der Tonusverlust betrug je nach Grösse der Dosis 1 bis 13 mg, das entspricht bis zu 84 % der Ausgangslage.

Ein Erschlaffen der Muskeln liess sich in den vorliegenden Versuchen schon mit Konzentrationen von 10^{-8} bis 10^{-10} Mol/Liter auslösen. In verschiedenen früheren Arbeiten werden höhere Dosen als Schwellendosis angegeben, die bei 10^{-4} bis 10^{-8} g/ml - das sind etwa $6 \cdot 10^{-4}$ bis $6 \cdot 10^{-6}$ Mol/Liter - liegen (3; 20; 30; 47). In der Arbeit von KOELLA und RÜEGG (30) wird hervorgehoben, dass die Ausgangslage einen massgeblichen Einfluss auf die Reaktion hat, indem stark tonisierte Muskelstreifen schon bei kleineren Mengen ansprechen als solche mit geringem Tonus. Obwohl versucht wurde, immer die gleiche Ausgangslage des Tonus zu erreichen, stellte sich bei einigen Sphinkteren ein niederer Tonus ein; bei diesen wurde häufiger eine etwas höhere Schwellendosis (10^{-8} molar) benötigt, um einen deutlichen Abfall des Tonus zu erreichen. Dies lässt sich wohl schon aus rein mechanischen Gesichtspunkten erklären. KOELLA und RÜEGG nehmen für die stärkere Tonisierung einzelner Muskeln auf passive Dehnung hin eine autonome Bildung von A.Ch. an, die auch schon von HESS (23) erwähnt wurde.

Steigert man die Menge des zugeführten Sympathikomimeticums, so ergibt sich ein grösserer Spannungsabfall. Diese Tatsache deckt sich mit den Ergebnissen früherer Autoren (30); eine gleiche Wirkungsabhängigkeit von der Grösse der zugeführten Dosis sahen wir auch bei den Ergebnissen auf A.Ch.-Reizung, nur dass es sich hierbei um eine Tonuszunahme handelt. Ähnlich wie dort findet sich auch jetzt bei Nor-Adrenalin eine S-förmige Dosis-Wirkungs-Kurve. Bei grosser Adrenalin-gabe sinkt der Tonus auf eine Ruhelage, die durch weiteres Steigern der Adrenalin-konzentration nicht mehr unterschritten wird. Meist beträgt diese Ruhelage noch wenige Milligramm, andererseits konnte auch ein völliges Absinken der Spannung beobachtet werden. Die Erschlaffung tritt sowohl bei grosser Spontankontraktion wie auch bei geringer Spannung infolge starker Verlängerung auf die passive Dehnung hin ein. HESS und Mitarbeiter (25) zeigten ebenfalls diese Erschlaffung, eventuell vollen Rückgang des Tonus.

Für die Latenzzeit gilt dasselbe, was schon bei A.Ch. gesagt wurde. Die Reaktion setzt im Allgemeinen sehr rasch ein, um dann langsam auszuklingen. Auch RÜEGG und HESS geben schon an, dass die Erschlaffung relativ rasch abläuft. Aus den Abbildungen ihrer Arbeit ergibt sich hierfür eine Zeit von ungefähr 30 Sekunden. Die in den vorliegenden Versuchen gemessenen, sehr unterschiedlichen Zeiten des Reaktionsablaufes deuten wohl auf die verschiedene Bereitschaft zum Nachlassen der Kontraktion hin. Bei Versuch Nr. 44 (siehe Tabelle S. 12) erklärt sich die lange Zeit von 100 Sekunden bei 10^{-6} Mol Adrenalin/Liter wahrscheinlich daher, dass die Ausgangsspannung hierbei nur bei 12 mg lag, während sie sonst höher (15 mg) war. Die geringere Anspannung vor Zuführen des Wirkstoffes, die durch weiteres Anspannen nicht erhöht werden konnte, spricht für die geringe Bereitschaft zum Entspannen, die sich dann in der langen Zeit des Ablaufes darstellt. Verlängernd wirkt wohl auch die Tatsache, dass gelegentlich zunächst eine kurze Kontraktion dem Erschlaffen vorangeht.

Die Ursache einer solchen Kontraktion wird von KOELLA und RÜEGG (30) damit erklärt, dass für Acetylcholin und Adrenalin verschiedene Rezeptoren vorhanden sind; diese sprechen jedoch - wenn auch nur schwach - ebenfalls auf den Reiz durch den entgegengesetzten Wirkstoff an. Die nachfolgende Tonusabnahme wird dann durch Adrenalin

am sympathischen Receptor ausgelöst, die Kontraktion durch A.Ch. am parasympathischen Receptor. Danach wäre ein initiales Nachlassen der Spannung auf A.Ch.-Einwirken am Adrenalin-Receptor zurückzuführen. Auf diese Weise lassen sich gegensinnige Reaktionen erklären.

Die Wirkung des Nikotinbitartrates auf die isolierten Sphinkteren ist adrenalinähnlich, es tritt Erschlaffung ein. Um sicher zu sein, dass dieser Einfluss auf Nikotin zurückzuführen ist und nicht auf etwa vorhandene Verunreinigungen und Zersetzungsprodukte der Handelsform wurde der Stoff bei einigen Versuchen nach der Methode von FORST (14) mit Tierkohle gereinigt. Dabei wurde ein Verlust von 15 % Nikotin zu Grunde gelegt (14), der bei Ansetzen der Verdünnungsreihe wieder ausgeglichen wurde. Die Untersuchungen mit gereinigtem Nikotin ergaben gegenüber den vorausgegangenen Versuchen keine Änderung der Reaktionen. Diese werden also vom Nikotin ausgelöst.

Aus der Einleitung geht hervor, dass nach früheren Veröffentlichungen (16; 9; 26) anzunehmen war, Nikotin wirke ähnlich dem Acetylcholin, werde also eine Tonuszunahme oder Kontraktion hervorrufen. Bei grosser Menge zugeführten Nikotins (10^{-2} molar) sehen wir tatsächlich ein Ansteigen des Tonus. Nach SCHOFIELD (49) kann ein Effekt nach so hoher Dosis jedoch nicht als spezifisch betrachtet werden. Nach FORST und REITER (16) entsprechen $5 \cdot 10^{-6}$ m Nikotin/Liter in ihrer Wirkung am Aplysiaherzen derjenigen von $5 \cdot 10^{-12}$ m A.Ch./Liter. Die Antwort des Herzens ist die gleiche, sodass angenommen wird, dass beide Stoffe am gleichen Receptor angreifen - eine ganglionäre Wirkung ist auszuschliessen, da keine Ganglienzellen vorhanden sind.

An den Irisschliessmuskeln wirken ähnlich geringe Dosen Nikotin jedoch deutlich erschlaffend, also der A.Ch.-Reaktion entgegengesetzt. Um den gleichen Effekt wie 10^{-9} Mol Nor-Adrenalin durch Nikotin zu erhalten, muss die Konzentration etwa das 10 000-fache betragen (10^{-5} molar). Wie aus den Versuchen hervorgeht, findet man bei Adrenalin gelegentlich zunächst eine kurze Kontraktion; die gleichen Erscheinungen beim Nikotin lassen sich vielleicht ähnlich erklären durch eine vorübergehende Reizung der A.Ch.-Rezeptoren.

Der Abfall des Tonus nach Nikotin vollzieht sich etwa in der gleichen Zeit wie nach Nor-Adrenalin. Beidesmal richtet sich der zeitliche Ver-

lauf des Abfalls nach der Dosis, andererseits auch nach der Bereitschaft zum Erschlaffen. Auf Grund dieser übereinstimmenden Effekte liegt der Schluss nahe, dass hier kein direkter Nikotin-Einfluss vorliegt, sondern eine Erregung sympathischer Elemente, die mit einer Adrenalinausschüttung antworten. Ganglienzellen konnten allerdings bisher nicht in der Iris festgestellt werden; auch aus der Arbeit von PERRY und TALESNIK (37) lässt sich schliessen, dass keine Ganglienzellen vorhanden sind, auf die Nikotin einwirken könnte; auf intraarteriell gegebenes Nikotin trat eine Verengerung der Pupillen am Versuchstier ein, die jedoch nach Durchtrennen der kurzen Ciliarnerven nicht mehr auftrat. Der Effekt ist also auf die Erregung parasympathischer Ganglien zurückzuführen; da an der Iris nur eine nervös übertragbare, jedoch keine direkte Miosis eintritt, befinden sich hier wahrscheinlich keine Ganglien mehr. Dasselbe gilt von den Untersuchungen von SCHOFIELD (49), der statt einer Kontraktion eine Dilatation der Pupille beschrieb.

Um den Nikotineinfluss über Ganglienzellen experimentell auszuschliessen, wurde dem Muskelbad ein Ganglienblocker - Hexamethonium - hinzugefügt. Wirkt Nikotin nur über Ganglien, so dürften die Muskeln nun nicht mehr erschlaffen (11). Da Hexamethonium ebenfalls einen erschlaffenden Effekt besitzt, muss man solange mit der Nikotinzufuhr warten, bis sich eine neue Ruhelage eingestellt hat. Die Reaktion auf Nikotin bleibt unverändert, gleichgültig, ob Hexamethonium vorhanden ist oder nicht. Die Wirkung wird also nicht von Ganglienzellen übertragen.

Um auszuschliessen, dass Adrenalin an anderen Stellen im Muskel, etwa den sympathischen Nervenenden, durch Nikotinbitartrat freigesetzt wird, wurde der Tyrodelösung Dihydroergotamin hinzugefügt. Von den Mutterkornalkaloiden ist bekannt, dass sie den Adrenalineffekt unterdrücken, erstmals untersucht von DALE' (6) an verschiedenen Organen mit glatten Muskeln, später am Herzen durch AMSLER (2), durch ROTHLIN an glatten Muskeln des Darmes, des Uterus und der Samenblasen (41). Letzterer stellte dabei fest, dass die hydrierte Form stärker wirksam ist als die nicht hydrierte Substanz (42; 43); qualitativ ändert sich die Wirkung nicht. KITAHARA (29) zeigte an Irissphinkteren, dass auch hier die lähmende Kraft des Adrenalins durch Ergotamin gehemmt wird. Für DHE zeigte HESS mit seinen Mitarbeitern (24; 25; 26) den gleichen Effekt an isolierten Augenmuskeln. Auch in den vorliegenden Versuchen konnte

es erreicht werden, die Adrenalin-Reaktion zu hemmen. Reicht die DHE-Menge nicht aus, den Adrenalin-Einfluss zu unterdrücken, so hemmt sie doch deutlich Ablauf und Grösse des Tonusverlustes.

Wird statt des Adrenalins Nikotin als adrenalin-ähnlich wirkende Substanz hinzugefügt, so ändert sich die Nikotin-Wirkung nicht unter DHE-Einfluss. Danach lässt sich die Annahme, dass Adrenalin durch Nikotin freigesetzt wird, nicht mehr aufrechterhalten. Das Nachlassen des Tonus am isolierten Sphinkter Iridis beruht also auf dem Reiz des Nikotins selbst.

Um die Änderungen der Aktionsbereitschaft des Muskels unter Nikotin zu untersuchen, wurde mit elektrischen Stromstössen oder A.Ch. gereizt, während der Muskel in Nikotinhaltiger Tyrodelösung ist. Da das Präparat noch mit Kontraktionen reagiert, auch wenn es unter grosser Nikotindosis steht, muss man eine Lähmung des Muskels ausschliessen. Die Reaktion gegenüber Reizen in reiner Tyrodelösung ist jedoch verringert; ist die Nikotin-Dosis geringer, so ist sogar eine grössere Reaktion nach elektrischen Reizen vorhanden. Geringe Nikotinmengen sensibilisieren also auf elektrische Reize, weniger auf A.Ch.. Durch das Absinken des Tonus der Irissphinkteren ergibt sich eine höhere Bereitschaft zur Kontraktion, sodass dieses Phänomen rein mechanisch erklärt werden kann. Durch höhere Nikotindosen wird der Muskel wahrscheinlich teilweise gelähmt: das würde die geringere Antwort auf elektrische Reize oder A.Ch. erklären.

Der Angriffspunkt des Nikotins ist wohl die ganze Muskelzelle, während Adrenalin an spezifischen Rezeptoren (6; 26; 30) angreift. Zu dieser Annahme führt die Tatsache, dass DHE an den peripheren Endigungen des Sympathikus eingreift (31; 40), an den Stellen also, wo die Adrenalin-Rezeptoren vermutet werden (10). Dadurch kann ein sympathischer Reiz - durch Nerven oder durch Adrenalin - das Erfolgsorgan nicht mehr beeinflussen (2; 6). Da die Nikotinwirkung noch auftritt, wenn die sympathischen Rezeptoren gehemmt werden, kann eine selektive Erregung an diesen Stellen nicht die Ursache davon sein.

Da bei den Untersuchungen mit Nikotin die Präparate auch der Einwirkung von Hexamethonium und Dihydroergotamin ausgesetzt waren, soll im Folgenden hierüber kurz einiges gesagt werden.

Hexamethonium ruft in vivo eine Dilatation der Pupille hervor (49; 50), die aber durch eine Lähmung der Ciliarganglien zustande kommt. Am Präparat des Dünndarmes konnte ebenfalls nur eine Lähmung der Ganglienzellen festgestellt werden (11). Eine periphere Wirkung an quergestreifter Muskulatur stellte JEPSON (28) fest; Hexamethonium in sehr hohen Dosen ruft an den Muskeln eine Blockade der neuro-muskulären Synapsen hervor. Über eine Spannungsänderung des Muskels auf Grund des Zuführens von Hexamethonium wird dabei nicht berichtet. An der Pupille selbst wurden Untersuchungen mit einem anderen Ganglienblocker (Tetramethylammonium) durch HEYMANS und HOORENS (27) durchgeführt. Dieser Stoff führt zu einer Mydriasis, die bei einer starken Dosis bis zur maximalen Dilatation gesteigert wird; die Substanz wurde hierbei subkonjunktival oder in die Augenkammer hinein gegeben.

An den isolierten Sphinkteren zeigte sich auf Hexamethonium hin ebenfalls eine Dilatation. Der Muskel reagiert schon auf schwächere Konzentrationen als bei Nikotin. Die Sphinkteren entspannen sich jedoch nach grossen Nikotinmengen erheblicher, als nach grossen Dosen von Hexamethonium. In diesen Fällen sinkt der Tonus immer nur wenig ab.

Kombiniert man Hexamethonium mit Nikotin oder Adrenalin, so summieren sich die Wirkungen beider Stoffe; man findet auch keine Wirkungsänderung, wenn die Substanzen nacheinander zugeführt werden. Die Abnahme des Muskeltonus nach Hexamethonium lässt sich vielleicht als eine Änderung des Muskelpotentials geringen Ausmasses annehmen.

Dihydroergotamin bewirkt am Sphinkter eine Tonuszunahme. Diese stimulierende Wirkung der Mutterkornalkaloide wurde schon frühzeitig von DALE (6) an Organen mit glatter Muskulatur gezeigt, darunter auch am Sphinkter der Iris. Dasselbe Ergebnis berichten auch KITAHARA (29) und POOS (38), der sowohl an Sphinkteren wie Dilatatoren eine Tonuszunahme feststellt. Es ist deshalb anzunehmen, dass Ergotamin eine direkte Wirkung auf die glatte Muskulatur selbst besitzt. POOS erklärt so die Ergebnisse von HESS am Auge in vivo (22), der eine initiale Dilatation mit folgender Kontraktion der Pupille auf Ergotamin hin beschreibt.

Später wurde von HESS und seinen Mitarbeitern (26) eine Erschlaffung der isolierten Dilatatoren der Iris beschrieben, also ein der parasympathischen Erregung gleichende Reaktion. Die in den vorliegenden Versu-

chen erfolgte Anspannung der Sphinkteren spricht ebenfalls für eine parasympathische Erregung, ist jedoch damit noch nicht bewiesen.

Die Wirkung im Vergleich zu A.Ch. ist auch viel geringer, die Schwelendosis liegt bei sehr viel höheren Konzentrationen. Ist die Grundspannung erhöht, so bewirkt DHE nur eine geringe Zunahme des Tonus; es wirkt also nicht besonders stark. Eine geringe Wirkung stellte auch KITAHARA bei Ergotamin fest (29). Dafür spricht auch der träge Verlauf der Tonusänderungen.

ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) Nikotin bringt die Irissphinkteren ähnlich wie Adrenalin zum Erschlaffen. Im Gegensatz zu letzterem kann die Reaktion nicht durch Dihydroergotamin verhindert werden. Auch nach einem Ganglienblocker - Hexamethonium - tritt die Nikotinwirkung auf, sodass angenommen wird, der Entspannungseffekt des Nikotins auf die isolierten Sphinkteren beruhe auf dem Reiz der Substanz selbst am Sphinkter Iridis als Erfolgsorgan.
- 2.) Es wird die Empfindlichkeit der Irismuskeln gegenüber Acetylcholin- und Adrenalin-Reizen verschiedener Konzentration geprüft. Die Schwellendosis für Nikotin liegt etwa 10 000-fach höher als für Adrenalin (10^{-5} Mol/Liter bei Nikotin, 10^{-9} Mol/Liter bei Adrenalin).
- 3.) Hexamethonium führt zu geringem Spannungsabfall. Die Schwellendosis liegt bei 10^{-7} Mol/Liter.
- 4.) Dihydroergotamin bewirkt eine geringe Tonuszunahme. Die Schwellendosis liegt mit 10^{-4} Mol/Liter noch höher als die von Nikotin.

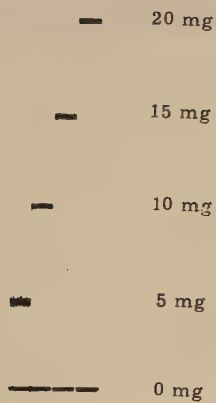


Abbildung 1.
"Eichkurve"

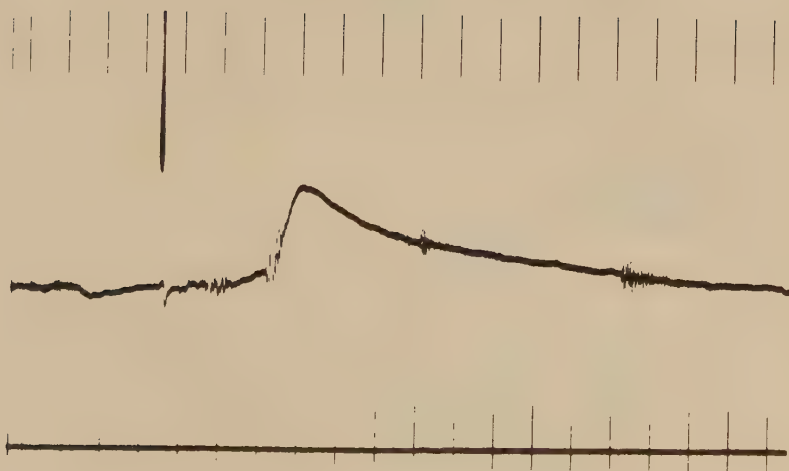


Abbildung 2.

Bei der Markierung wurde $8 \cdot 10^{-9}$ m A. Ch. / Liter hinzugefügt.
Zeitmarken: 2 Sekunden

Abbildung 3.

Wirkung von Acetylcholin in Abhängigkeit von der Dosis.
(Versuch 38)

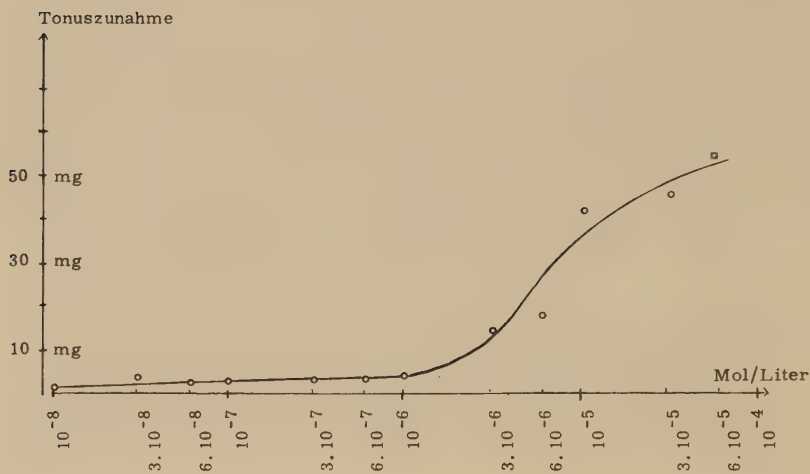


Abbildung 4.

Verteilungskurve der Schwellenkonzentration von Acetylcholin.

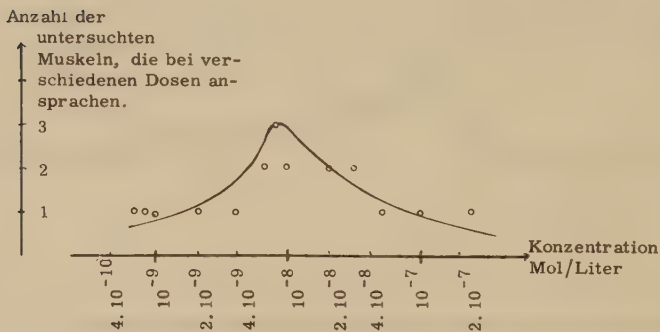


Abbildung 5.

10^{-6} Wirkung von
Mol Noradrenalin
pro Liter

Zeitmarken: 10 Sekunden



Abbildung 6.

Wirkung von Nor-Adrenalin in Abhängigkeit von der Dosis.
(Versuch 44)

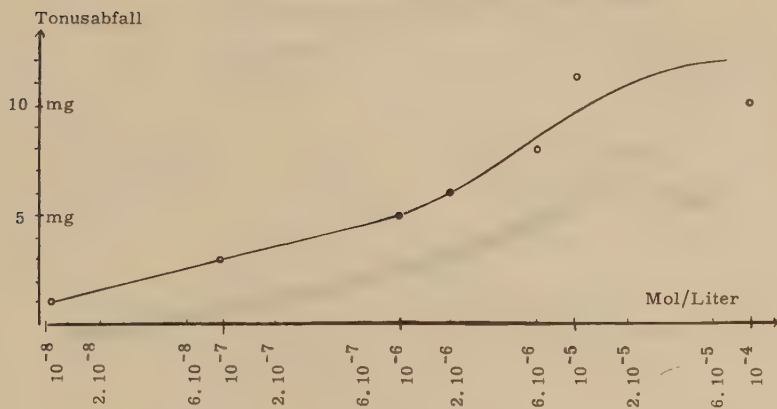


Abbildung 7.

Verteilungskurven für Adrenalinwirkung

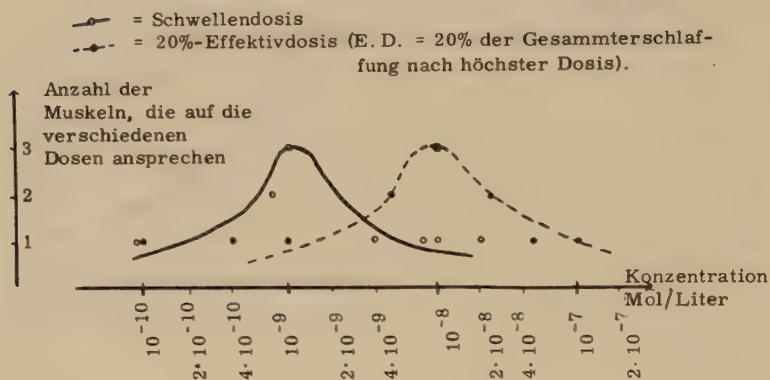


Abbildung 8.

Wirkung von 10^{-4} Mol Nikotinbitartrat/Liter
 Zeitmarken: 10 Sekunden

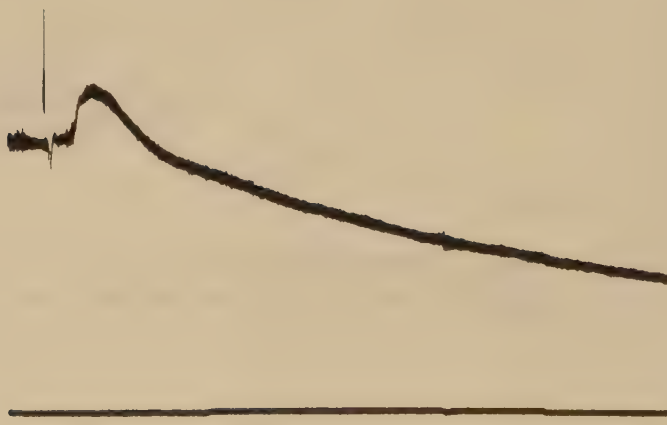


Abbildung 9.

Wirkung von Nikotinbitartrat in Abhängigkeit von der Dosis

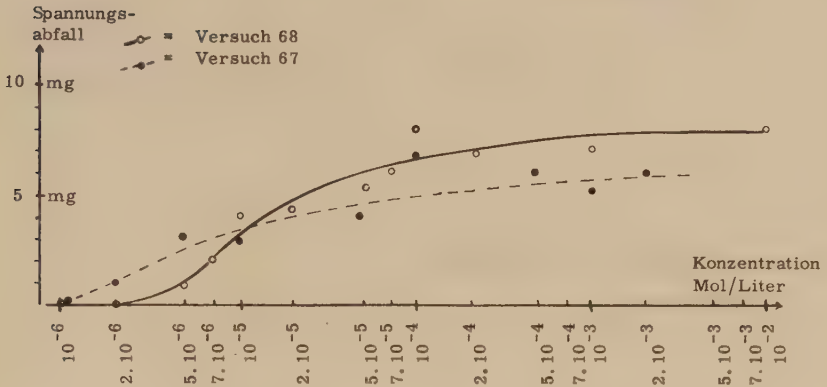


Abbildung 10.

Verteilungskurven für Nikotinwirkung

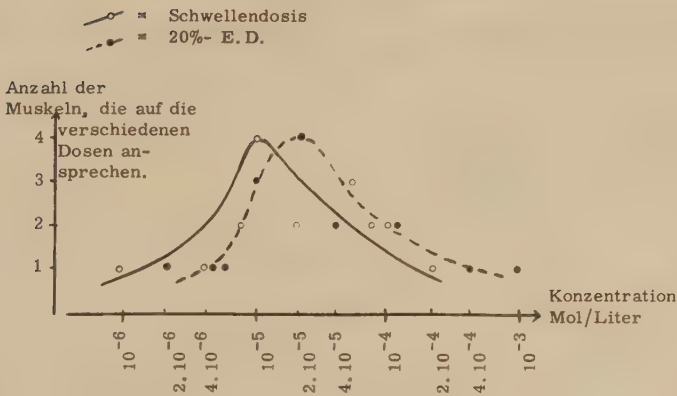


Abbildung 11.

Wirkung von

 10^{-8} Mol Hexamethonium/Liter

Zeitmarken: 10 Sekunden



Abbildung 12.

Wirkung von Hexamethonium auf den Sphinkter in Abhängigkeit von der Dosis.
(Versuch 77).

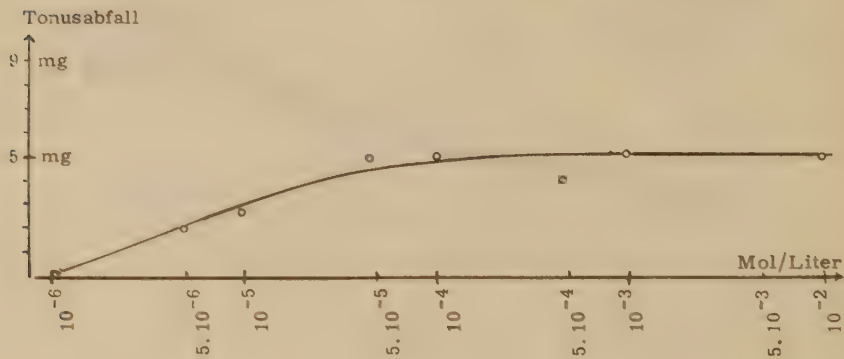


Abbildung 13.

Verteilungskurve der Schwellendosis für Hexamethonium.

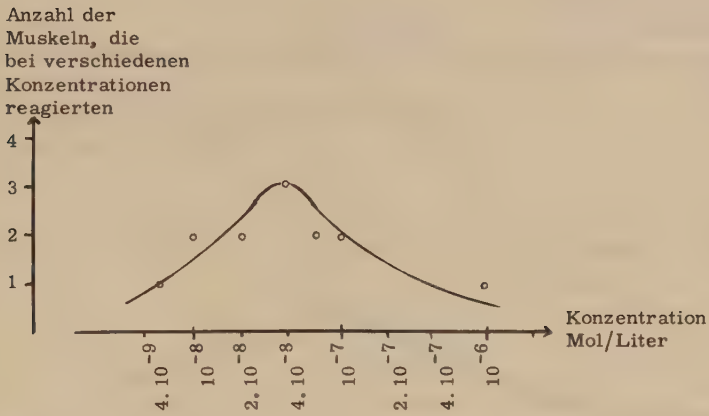


Abbildung 14.

Wirkung von $2 \cdot 10^{-4}$ Mol Dihydroergotamin/Liter

Zeiteinheit: 10 Sekunden



Abbildung 15.

Verteilungskurve der Schwellendosis für Dihydroergotamin.

Anzahl der Muskeln,
die bei verschiedenen
Konzentrationen
reagierten

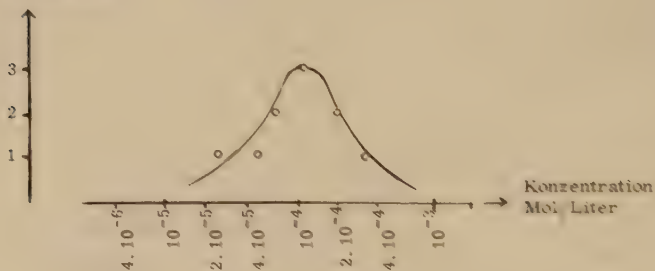


Abbildung 16.

Unterdrücken des Adrenalin-Effektes am isolierten Sphinkter Pupillae durch DHE.

bei 4: $3 \cdot 10^{-4}$ Mol DHE/Liter
 bei 5: 10^{-6} Mol Adrenalin/Liter
 Zeiteinheit: 10 Sekunden

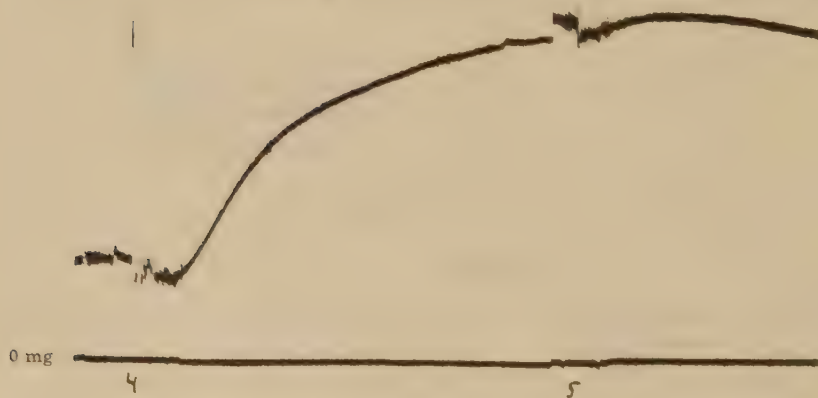


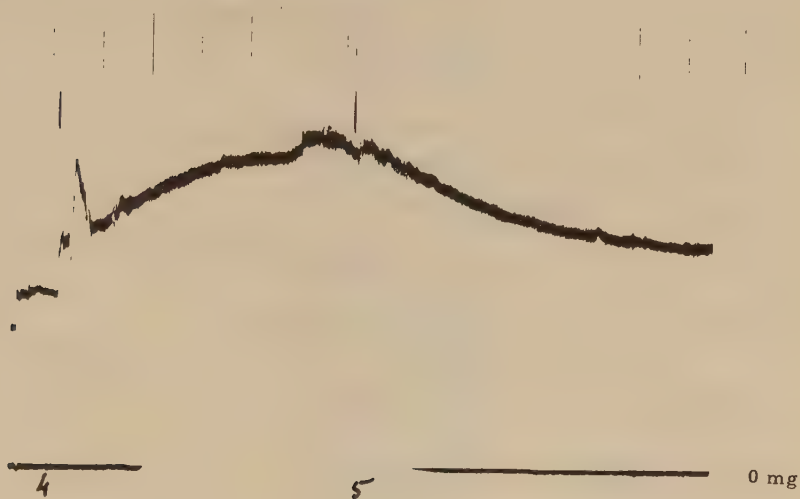
Abbildung 17.

Nikotin-Effekt am isolierten Sphinkter Pupillae nach Dihydroergotamin.

bei 5: 10^{-4} Mol Nikotinbitartrat/Liter

bei 4: $3 \cdot 10^{-4}$ Mol DHE/Liter

Zeiteinheit: 10 Sekunden



LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Ambache, N. und Edwards, J.:
J. Pharmacol. and exp. Ther.
103, 259 (1951)
- 2) Amsler, C.:
Pflüg. Archiv ges. Physiol.
185, 86 (1920)
- 3) Bean, J.W. und Bohr, D.F.:
Americ. J. Physiol.
133, 106 (1941)
- 4) Brecht, K. und Kaumanns, H.:
Zschr. Biol.
103, 69 (1949)
- 5) Busse, Wolf und Lendle: Arch. exper. Pharm.
218, 177 (1953)
- 6) Dale, H.H.:
J. of Physiol.
34, 163 (1906)
- 7) Eccles, J.C.:
J. of Physiol.
85, 179 (1935)
- 8) Eccles, J.C.:
J. of Physiol.
85, 464 (1935)
- 9) Ellis, S. und Rasmussen, H.:
J. Pharm. and exp. Ther.
103, 259 (1951)
- 10) Euler, U.S.:
Pharmacol. Reviews
6, 15 (1954)
- 11) Feldberg, W.:
J. of Physiol.
113, 483 (1951)

- 12) Feldberg, W. und Lin, R.C.Y.:
 Brit. J. Pharm.
 4, 33 (1949)
- 13) Fleckenstein, A., Wagner, E. und Göppel, K.H.:
 Pflüg. Arch. ges. Physiol.
 253, 38 (1951)
- 14) Forst, A.W.:
 Arch. exp. Path. und Pharm.
 201, 261 (1943)
- 15) Forst, A.W. und Reiter, M.:
 J. Pharm. and exp. Ther.
 110, 18 (1954)
- 16) Forst, A.W. und Reiter, M.:
 XX. internat. Physiol. Kongress Brüssel,
 Abstracts S. 301 (1956)
- 17) Frank, E. und Katz, R.A.:
 Arch. exper. Path. und Pharm.
 90, 149 (1921)
- 18) Frank, E., Nothmann, M. und Hirsch-Kaufmann, H.:
 Pflüg. Arch. ges. Physiol.
 197, 270 (1922)
- 19) Giotti, A.:
 Brit. J. Pharm. and Chemother.
 9, 15 (1954)
- 20) Gunter, M. und Mulinos, M.G.:
 Arch. int. Pharmacodyn.
 62, 33 (1933)
- 21) Henze, M.:
 Pflüg. Arch. ges. Physiol.
 92, 451 (1902)
- 22) Hess, W.R.:
 Klin. Mbl. Augenheilkd.
 75, 225 (1925)
- 23) Hess, W.R.:
 Helv. Physiol. Acta
 7, 178 (1949)

- 24) Hess, W.R.: Arch. exp. Path. und Pharm.
219, 284 (1953)
- 25) Hess, W.R., Koella, W. und Szabo, Th.:
Zschr. ges. exper. Med.
115, 481 (1950)
- 26) Hess, W.R. und Koella, W.:
Zschr. ges. exper. Med.
116, 431 (1950/51)
- 27) Heymans, C. und Hoorens, A.:
Arch. int. Pharmacodyn. et Ther.
80, 347 (1949)
- 28) Jepson, R.P., Simeone, F.A. und Lynn, R.B.:
Amer. J. Physiol.
173, 70 (1953)
- 29) Kitahara, S.: Acta Soc. ophthalm. jap.
35, 1668 (1931)
Ref.: Ber. Ges. Physiol.
67, 153 (1931)
- 30) Koella, W. und Rüegg, J.C.:
Zschr. ges. exp. Med.
118, 390 (1952)
- 31) Konzett, H.: Helv. Physiol. Acta.
8, 245 (1950)
- 32) Kuenzle, Cl. C. und Waser, P.G.:
Arch. int. Pharmacodyn. et Ther.
109, 8 (1957)
- 33) Kuschinsky, G. und Hotovy, R.:
Klin. Wschr.
22, 649 (1943)
- 34) Langley: J. Physiol.
36, 347 (1907)

- 35) Muralt, A. von: Prakt. Physiologie, Springer-Verlag, Berlin
S. 75 (1948)
- 36) Paton, W.D. M. und Perry, W. L. M.:
J. Physiol.
119, 43 (1953)
- 37) Perry, W. L. M. und Talesnik, J.:
J. Physiol.
119, 455 (1953)
- 38) Poos, Fr.: Arch. exp. Path. und Pharm.
126, 307 (1927)
- 39) Richter, R.: Arch. exp. Path. und Pharm.
193, 281 (1939)
- 40) Rothlin, E.: Klin. Wschr.
4, 1437 (1925)
- 41) Rothlin, E.: Bullet. Schweiz. Akad. med. Wiss.
2, 249 (1947)
- 42) Rothlin, E.: Helv. Physiol. Acta
2, C 48 (1944)
- 43) Rothlin, E. und Brügger, J.:
Helv. Physiol. Acta
3, 519 (1945)
- 44) Rüegg, J. C.: Helv. Physiol. Acta
13, 309 (1955)
- 45) Rüegg, J. C.: Helv. Physiol. Acta
13, C 29 (1955)
- 46) Rüegg, J. C. und Langemann, H.:
Experientia
11, 447 (1955)
- 47) Rüegg, J. C. und Hess, W. R.:
Helv. Physiol. Acta
11, 216 (1953)

- 48) Schmid, E. und Knauff, H.G.:
Arch. exp. Path. und Pharm.
222, 330 (1954)
- 49) Schofield, B.M.:
Brit. J. of Pharm.
7, 665 (1952)
- 50) Wien, R. und Mason, D.F.J.:
Brit. J. of Pharm.
6, 611 (1951)
- 51) Zipf, K.E.:
Diss. UNI-Druck München (1955)

Herrn Professor Dr. A. W. FORST danke ich für das Überlassen eines Arbeitsplatzes im pharmakologischen Institut;

Herrn Dr. M. REITER danke ich für Rat und Unterstützung, die er mir freundlicherweise beim Durchführen der Arbeit zuteilwerden liess.

L E B E N S L A U F

Am 31. März 1933 wurde ich als Sohn des damaligen Privatdozenten Dr. Adolf Butenandt und seiner Gattin Erika, geb. v. Ziegner, in Göttingen geboren. Die erste Lebenszeit verbrachte ich in Göttingen, Danzig und Berlin-Dahlem. Dort wurde ich in die 4. Volksschule eingeschult, die ich 4 Jahre lang besuchte. Als Berlin von Frauen und Kindern evakuiert wurde, zogen wir für ein Jahr nach Bansin/Ostsee. Dort besuchte ich die Dorfschule; nebenher erteilte mir der Gemeindepfarrer den ersten Latein-Unterricht. 1944 kam ich für kurze Zeit ins Kinderlandverschickungsheim Crossen/Oder, konnte aber bald wieder ins Elternhaus zurückkehren. Wir übersiedelten im Herbst 1944 nach Tübingen. Dort besuchte ich das Uhlandgymnasium und erwarb im Februar 1953 das Reifezeugnis.

Mein Studium der Medizin begann ich im Sommersemester 1953 in Göttingen; im Sommersemester 1954 kehrte ich nach Tübingen zurück und bestand dort im Juli 1955 das Physikum. Seit dem Wintersemester 1956/57 studierte ich in München. Im Herbst 1958 beschloss ich das Studium mit dem medizinischen Staatsexamen.

Am 15.1.1959 begann ich meine Ausbildungszeit als Medizinalassistent am Kreiskrankenhaus München-Pasing auf der chirurgischen Abteilung.

